



# Kwaliteit Biogas-CO<sub>2</sub> voor toepassing in de Glastuinbouw

C.J. van Dijk, E. Meinen & Th. A. Dueck



Rapport GTB-1310



## Referaat

Een lijst van specificaties voor vloeibaar CO<sub>2</sub> uit biogas moet voorkomen dat fytotoxische componenten vanuit het biogas meekomen met de CO<sub>2</sub> stroom en een risico vormen voor de gewassen in glastuinbouw. Op basis van eerder uitgevoerde metingen in afgassen van vergistingsinstallaties is een lijst samengesteld van de in het gas voorkomende componenten en een beoordeling op fytotoxiciteit. Deze screening toont aan dat sommige componenten als potentieel fytotoxisch moeten worden aangemerkt. In aanvulling daarop zijn dimethylsulfide en benzeen in afzonderlijk begassingsexperimenten nader getest op fytotoxiciteit. Hiervoor zijn paprika en tomaten planten gedurende drie weken blootgesteld aan een concentratiereeks van de betreffende componenten. Uit deze begassingsproeven blijkt dat bij paprika en tomaat geen negatieve effecten zoals zichtbare bladbeschadiging en groeireductie zijn te verwachten na blootstelling aan DMS concentraties tot ca. 800 ppb, en benzeen concentraties tot ca. 650 ppb gedurende drie weken. De resultaten laten zien dat uitgaande van een geschatte gemiddelde concentratie in de kas op plantniveau, het niet aannemelijk is dat de concentraties in het biogas in de praktijk tot effecten aan planten zullen leiden. Met de lijst van mogelijke risicovolle componenten en een test van twee componenten is een aanzet gemaakt om te komen tot specifieke kwaliteitseisen voor vloeibaar CO<sub>2</sub> voor toepassing in de glastuinbouw.

## Abstract

A list of specifications for liquid CO<sub>2</sub> from biogas is necessary to prevent phytotoxic components in biogas from coming with the CO<sub>2</sub> flow into greenhouses and pose a risk to horticultural crops. A list of gaseous components as well as an assessment of their phytotoxicity was compiled, based on measurements carried out on waste gases from digesters. This screening indicated that some of these components have to be considered to be potentially phytotoxic. In addition to this list, dimethyl sulphide and benzene were further tested in separate fumigation experiments for their phytotoxicity. Pepper and tomato plants exposed to a concentration range of the respective components for three weeks. The results indicate that pepper and tomato no negative effects such as visible leaf damage and growth reduction are to be expected after exposure to dimethyl sulphide concentrations up to 800 ppb, and benzene concentrations up to 650 ppb for three weeks. The results also indicate that based on an estimated average concentration in the greenhouse at plant level, it is unlikely that the biogas will affect horticultural plants. With the list of possible risk components and the test on these two components, a start has been made in establishing specific quality requirements for liquid CO<sub>2</sub> for use in greenhouses.

© 2014 Wageningen, Wageningen UR Glastuinbouw

## Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen  
: Postbus 616, 6700 AP Wageningen  
Tel. : 0317 - 48 60 01  
Fax : 0317 - 41 80 94  
E-mail : [glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)  
Internet : [www.glastuinbouw.wur.nl](http://www.glastuinbouw.wur.nl)

# Inhoudsopgave

|             |  |    |
|-------------|--|----|
|             | Voorwoord  | 5  |
|             | Samenvatting   | 7  |
| 1           | Inleiding  | 9  |
| 2           | Opzet en uitvoering begassingsonderzoek                          | 11 |
|             | 2.1 Klimaatinstellingen  | 12 |
|             | 2.2 Plantverzorging  | 12 |
| 3           | Resultaten   | 15 |
|             | 3.1 Beoordeling en prioritering gasvormige componenten in biogas | 15 |
|             | 3.2 Concentraties en klimaatomstandigheden                       | 18 |
|             | 3.3 DMS experiment   | 18 |
|             | 3.4 Benzeen experiment   | 20 |
| 4           | Discussie & conclusies   | 23 |
| 5           | Referenties  | 25 |
| Bijlage I   | Voedingsoplossing  | 27 |
| Bijlage II  | Verwerking van gegevens  | 29 |
| Bijlage III | Gasanalyses Pentair Haffmans                                     | 30 |



# Voorwoord

Dit onderzoek maakt deel uit van het onderzoeksprogramma High Tech Greenhouse 2020, bedoeld om nieuwe innovatieve oplossingen op het gebied van klimaat, energie, licht, substraat en water te combineren tot een integraal hightech glastuinbouwsysteem. Het maakt deel uit van een Interreg programma waarbij 18 Nederlandse en Duitse partijen uit onderzoek en bedrijfsleven betrokken zijn.

De in dit rapport beschreven experimenten zijn opgezet om de risico's van het gebruik van CO<sub>2</sub> uit biogas in de Glastuinbouw beter in kaart te brengen.

De auteurs bedanken Ton van der Zalm voor technische ondersteuning bij het opzetten van de begassingsfaciliteiten en het meten en regelen van de gascomponenten en Unifarm voor de hulp bij de teelttechnische zaken.

C.J. van Dijk, E. Meinen en Th. A. Dueck.  
Wageningen UR Glastuinbouw

Mei 2014



# Samenvatting

De Nederlandse glastuinbouw is in transitie naar een klimaatneutrale sector waarbij fossiele brandstoffen steeds meer vervangen worden door duurzame energiebronnen. Bij het gebruik van duurzame bronnen komt over het algemeen geen CO<sub>2</sub> vrij. De verwachting is dan ook dat er de komende jaren een grote vraag zal ontstaan naar nieuwe duurzame CO<sub>2</sub> bronnen voor de glastuinbouw. CO<sub>2</sub> uit opgewaardeerd biogas zou een dergelijk duurzaam alternatief kunnen zijn.

Doel van dit project is te komen tot specificaties voor vloeibaar CO<sub>2</sub> uit biogas voor toepassing in de glastuinbouw. Dit moet voorkomen dat bepaalde componenten vanuit het biogas meekomen met de CO<sub>2</sub> stroom en een risico vormen voor de gewassen in glastuinbouw. Op basis van eerder uitgevoerde metingen in afgassen van vergistingsinstallaties is een lijst samengesteld van de in het gas voorkomende componenten en een beoordeling op fytotoxiciteit. Deze screening toont aan dat sommige componenten als potentieel fytotoxisch moeten worden aangemerkt. Deze groep bevat ook componenten zoals zwaveldioxide (SO<sub>2</sub>), stikstofoxiden (NO<sub>x</sub>), ammoniak (NH<sub>3</sub>) en waterstofsulfide (H<sub>2</sub>S) waarvoor al effectgrenswaarden voor planten zijn afgeleid. Voor de overige potentieel fytotoxische componenten is op basis van *expert judgement* en beschikbaarheid (voor begassingsproeven) de volgende prioritering aangebracht:

1. Dimethylsulfide (DMS, als representant van de groep sulfide verbindingen waarvan geen informatie beschikbaar is)
2. Benzeen (ter bevestiging van de relatief lage effectgrenswaarde maar waarvan de wetenschappelijke basis smal is)
3. Ethanol (alcohol, potentieel fytotoxisch)
4. 1-propaanethiol (mercaptanen/thiolen, potentieel fytotoxisch)
5. 1-propanol (alcohol, potentieel fytotoxisch)

DMS en benzeen zijn beide in een afzonderlijk begassingsexperiment nader getest op fytotoxiciteit. Hiervoor zijn paprika en tomaten planten gedurende ongeveer drie weken blootgesteld aan een concentratiereeks van de betreffende componenten. Op grond van het onderzoek worden de volgende conclusies getrokken:

1. Uit de begassingsproef blijkt dat bij paprika en tomaat geen negatieve effecten zoals zichtbare bladbeschadiging en groeireductie zijn te verwachten na blootstelling aan DMS concentraties tot ca. 800 ppb gedurende ongeveer drie weken. De resultaten laten zien dat uitgaande van een geschatte gemiddelde concentratie in de kas op plantniveau van 35 ppb, het niet aannemelijk is dat de concentraties in het biogas in de praktijk tot effecten aan planten zullen leiden. Op het einde van de begassingsproef zijn een aantal planten kortdurend blootgesteld aan een hoge concentratie zonder aantoonbaar effect. Blijkbaar leiden ook piekbelastingen niet tot effecten bij paprika en tomaat.
2. Uit de begassingsproeven blijkt dat bij paprika en tomaat geen negatieve effecten zoals zichtbare bladbeschadiging en groeireductie zijn te verwachten bij blootstelling aan benzeen concentraties tot ca. 650 ppb gedurende ongeveer drie weken. De hoogste toegepaste concentratie is circa 10x hoger dan de hoogst gemeten concentratie in het biogas. het feit dat bij deze hoge concentratie geen aantoonbare effecten zijn vastgesteld maakt het niet aannemelijk dat de concentraties in het biogas in de praktijk tot effecten aan planten zullen leiden.
3. Hoewel niet onderzocht is het niet aannemelijk dat lagere concentraties gedurende langere tijd, zoals in praktijkkassen zou kunnen voorkomen, tot negatieve effecten zouden leiden;
4. Op grond van de gekozen blootstellingsduur van ca. drie weken was het niet mogelijk uitspraken te doen over de kwaliteit van (eetbare) vruchten;

Met de lijst van mogelijke risicovolle componenten en een test van twee componenten is een aanzet gemaakt om te komen tot specifieke kwaliteitseisen voor vloeibaar CO<sub>2</sub> voor toepassing in de glastuinbouw.



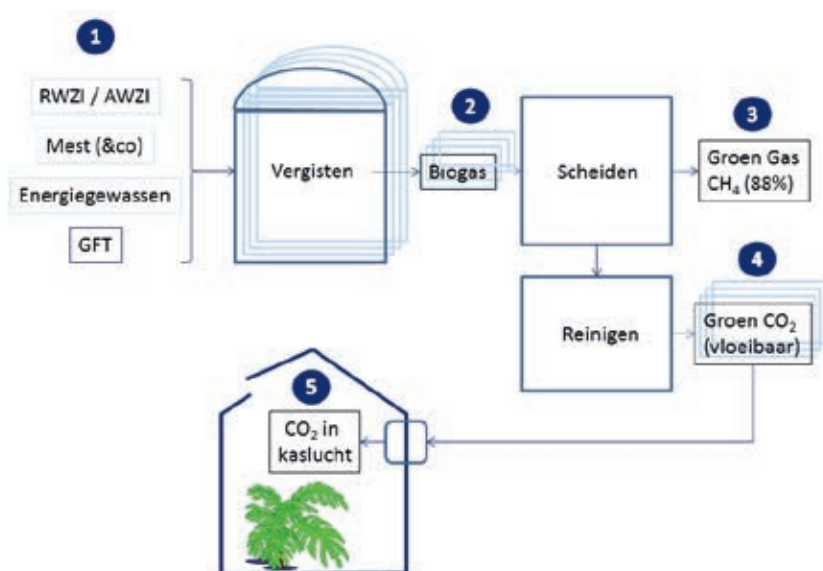


# 1 Inleiding

CO<sub>2</sub> dosering in kassen is gemeengoed in de Nederlandse glastuinbouw. De positieve effecten van het doseren van CO<sub>2</sub> zijn algemeen bekend: hogere productie en/of betere kwaliteit. Op veel bedrijven wordt CO<sub>2</sub> gedoseerd door middel van (gereinigde) rookgassen van ketels en installaties voor warmtekrachtkoppeling (WKK). Alternative bronnen voor CO<sub>2</sub> zijn zuiver CO<sub>2</sub> (relatief kostbaar) en CO<sub>2</sub> dat uit industriële processen wordt afgevangen (locatiegebonden: OCAP 'Botlek CO<sub>2</sub>' in Westland-Oostland en Yara in Terneuzen).

De Nederlandse glastuinbouw is in transitie naar een klimaatneutrale sector. Hierbij worden fossiele brandstoffen vervangen door duurzame energiebronnen. Een in het oog springend voorbeeld is de toepassing van aardwarmte voor de verwarming van kassen. Bij het gebruik van deze duurzame bronnen zoals aardwarmte, komt echter geen CO<sub>2</sub> vrij. De verwachting is dan ook dat er de komende jaren een grote vraag zal ontstaan naar een kosten-efficiënt en duurzaam alternatief voor de huidige bronnen van CO<sub>2</sub>.

Een nieuwe meer duurzame CO<sub>2</sub> bron voor de glastuinbouw zou opgewaardeerd biogas kunnen zijn. Biogas bestaat voor ca. 55% uit methaan en voor ca. 43% uit CO<sub>2</sub>. Bij het opwaarderen van het biogas naar aardgaskwaliteit wordt methaan van CO<sub>2</sub> gescheiden. De afgescheiden CO<sub>2</sub> kan mogelijk in de glastuinbouw worden gebruikt (Figuur 1). Er kunnen in het biogas echter schadelijke componenten zitten, met fytotoxische eigenschappen (zoals etheen, H<sub>2</sub>S en biologische verontreinigingen). Deze componenten worden gevormd bij de vergisting; de voeding van de vergister is hierbij bepalend. Biogas kan uit verschillende bronnen worden geproduceerd: AWZI -RWZI waterzuivering, monovergisting en co-vergisting van mest, vergisting van energiegewassen zoals maïs silage, vergisting van gft afval & stortgas. Verschillende bronnen kunnen verschillende verontreinigingen opleveren. De productiekosten zullen sterk afhankelijk zijn van de vereiste reinigingsstappen van het CO<sub>2</sub> mengsel. De opgave is om per bron tot kosten-efficiënte productie van glastuinbouw CO<sub>2</sub> uit biogas te komen.



Figuur 1. Schematische weergave van de verschillende stappen in het productieproces van glastuinbouw CO<sub>2</sub> uit biogas (Bron: Pentair Haffmans).

Het voorliggende project is een samenwerkingsverband tussen de firma Pentair Haffmans en Wageningen UR Glastuinbouw. Pentair Haffmans is gespecialiseerd in het ontwikkelen en leveren van installaties voor het opwaarderen en reinigen van biogas. Wageningen UR Glastuinbouw levert de kennis en expertise gericht op het bepalen van de kwaliteit van de CO<sub>2</sub> in relatie tot gewasontwikkeling. Pentair Haffmans heeft verschillende biogas installaties in gebruik die CO<sub>2</sub> produceren dat voldoet aan de specificaties voor de voedingsmiddelenindustrie, zoals vastgelegd in de *Bulk Carbon Dioxide Quality*

*Guidelines* (ISBT, 2010). Deze specificaties zijn echter niet of minder geschikt voor toepassing op de luchtkwaliteit in de glastuinbouw. Doel van dit project is te komen tot specificaties voor vloeibaar CO<sub>2</sub>, specifiek voor toepassingen in de glastuinbouw. Dit om te voorkomen dat bepaalde componenten vanuit het biogas meekomen met de CO<sub>2</sub> stroom en een risico vormen voor de gewassen in glastuinbouw. Er is gekozen voor een stapsgewijze aanpak.

#### *Stap 1. Concentratietingen in biogas*

Op basis van door Pentair Haffmans eerder uitgevoerde metingen in afgassen van vergistingsinstallaties wordt een lijst samengesteld van de in het gas voorkomende componenten en de bijbehorende concentratierange.

#### *Stap 2. Beoordelen fytotoxiciteit*

Op basis van de resultaten van de concentratietingen (Stap 1) worden de aantoonbare componenten op basis van informatie uit de literatuur beoordeeld op fytotoxiciteit en ingedeeld in drie categorieën:

1. Potentieel fytotoxisch
2. Niet fytotoxisch
3. Onbekend, geen informatie beschikbaar

#### *Stap 3. Begassingsonderzoek*

Componenten die als potentieel fytotoxisch werden aangemerkt of waar geen informatie van bekend is zijn geprioriteerd en twee van deze meest relevante componenten zijn nader onderzocht door middel van begassingsonderzoek waarbij testgewassen gedurende enkele weken aan verschillende concentraties van de betreffende componenten zijn blootgesteld.

## 2 Opzet en uitvoering begassingsonderzoek

Voor het testen van twee gasvormige componenten op fytotoxiciteit werden paprika en tomaten planten gedurende ongeveer drie weken aan verschillende concentraties van de betreffende component blootgesteld. Paprika en tomaat worden als representatief gezien voor de glastuinbouw. De twee begassingsproeven werden na elkaar uitgevoerd (18 januari - 4 februari 2014, 20 februari - 13 maart 2014).

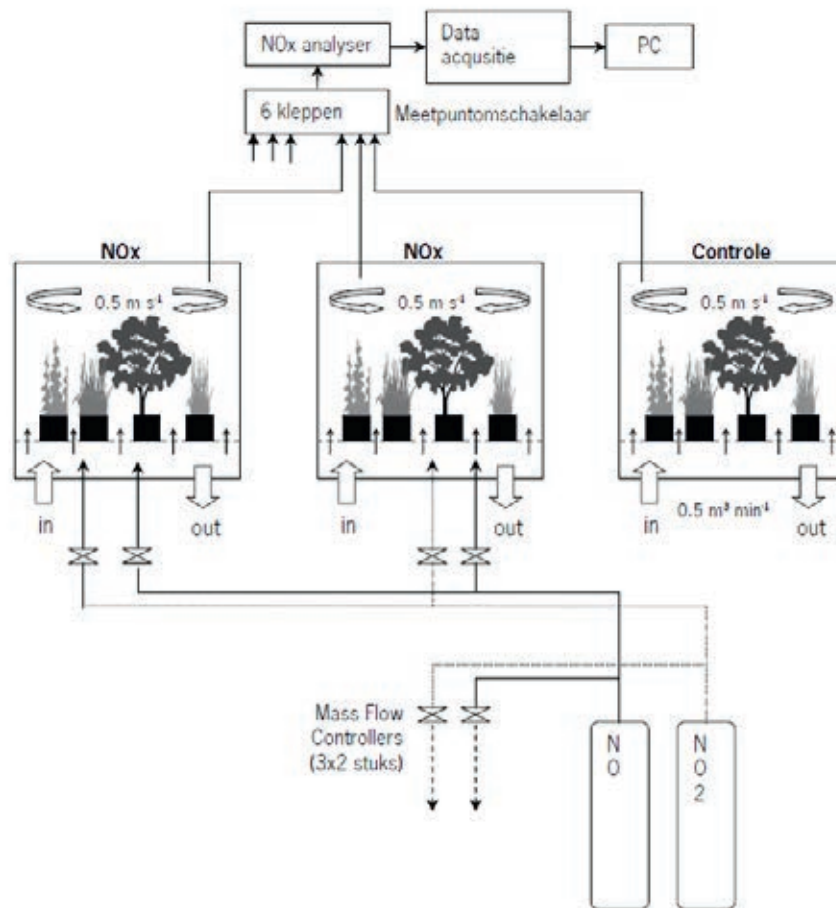
De planten werden blootgesteld in zes onafhankelijk van elkaar werkende begassingskasjes die stonden opgesteld in een geconditioneerde klimaatkamer (zie Figuur 2). De luchtdichte begassingskasjes zijn gemaakt van polycarbonaat (lexaan) in een frame van aluminium profielen. De afmetingen van de netto plantruimte van elk kasje zijn: 160x90x135 cm (1,94 m<sup>3</sup>). De bodem bestaat uit een bak afgedekt met een geperforeerde plaat, beide van RVS. Met een centrifugaalventilator wordt de snelheid van de circulatielucht op ca. 0,5 m.sec<sup>-1</sup> gehouden (recirculatie 60 m<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>). Verversingslucht wordt met een hoeveelheid van ca. 0,5 m<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> aangezogen via een koolfilter. Uitgaande lucht wordt rechtstreeks naar de buitenlucht afgevoerd. In elk kasje werd een lichte onderdruk aangehouden om weglekken van gassen naar de klimaatkamer te voorkomen.

De planten werden continu blootgesteld aan zes verschillende concentraties, inclusief de controle behandeling. De behandelingen werden random toegewezen aan de verschillende kasjes. Er is gekozen voor een concentratiereeks omdat een dergelijke opzet het mogelijk maakt dosis-respons-relaties vast te stellen en daaruit NOECs (No Observable Effect Concentrations) te berekenen (zie ook Bijlage II).

De gewenste concentratieniveaus in de vijf behandelingen (exclusief de controle behandeling) zijn gekozen op basis van een schatting van de gemiddelde concentratie op plantniveau in de kas (gemiddelde concentratie in de CO<sub>2</sub> stroom van verschillende vergistingsinstallaties en een verdunningsfactor). Vervolgens zijn op basis van *expert judgement* zowel twee lagere als twee hogere concentraties gekozen, met als uitgangspunt dat in de controle behandeling geen effecten waarneembaar mogen zijn en in de behandeling met de hoogste concentratie juist duidelijke effecten waarneembaar moeten zijn. De tussenliggende concentratieniveaus zijn volgens een vaste verhouding vastgesteld.

Begassing is uitgevoerd met dimethylsulfide (DMS) en met benzeen (resultaat van 'stap 2' beschreven in hoofdstuk 3). Uit de door Pentair Haffmans uitgevoerde metingen in biogas van verschillende vergistingsinstallaties (zie Bijlage III) is gebleken dat DMS in concentraties voorkomt variërend van 150 tot 6600 ppb (gemiddelde concentratie in de ingaande luchtstroom: 3500 ppb). Uitgaande van een verdunningsfactor van 100 (Dueck *et al.*, 2008; Dueck & Van Dijk, 2011) wordt de gemiddelde concentratie op plantniveau in een kas geschat op ca. 35 ppb. Voor dit onderzoek is uitgegaan van de gemiddelde concentratie omdat uit eerder onderzoek met etheen (Van Dijk, *et al.*, 2011) bekend is dat een gemiddelde concentratie meer fytotoxisch is dan kortdurende piekconcentraties, beide met dezelfde etheen dosis op dagbasis. De gewenste DSM concentratiereeks is vastgesteld op: 0, 14, 25, 43, 75 en 130 ppb. De benzeenconcentraties in biogas varieerden van 0 tot 60 ppb. Hier is niet gekozen voor het gemiddelde concentratieniveau in de kas als uitgangspunt voor de gewenste concentratiereeks maar voor de uit de literatuur bekende effectgrenswaarde van 31 ppb (Tonneijck & Van Dijk, 1993). De gewenste benzeen concentratiereeks is vastgesteld op: 0, 10, 18, 31, 54, 93 ppb.

De gewenste concentratieniveaus werden bereikt door de betreffende component vanuit een gascilinder in de juiste hoeveelheid continu toe te dienen aan de ingaande luchtstroom onder de geperforeerde bodemplaat door middel van thermische *Mass Flow Regulators* (Brooks 5850 TR, Veenendaal). De theoretisch berekende volumestromen naar de verschillende kasjes werden voor aanvang van de test (zonder planten) ingeregeld op het gewenste niveau met behulp van online metingen met stikstofoxide (NO) als testgas. Tijdens de test met DMS en benzeen werden op verschillende tijdstippen luchtmonsters genomen met behulp van een kunststof luchtmonsterzak en een pomp. De concentraties werden gaschromatografisch (SRI 8610 C) gemeten en indien nodig werden de volumestromen naar de kasjes bijgesteld.



Figuur 2. Schematische weergave van een deel van de proefopstelling voor blootstelling aan het te onderzoeken gas (NO en NO<sub>2</sub> in het schema dienen alleen als voorbeeld).

## 2.1 Klimaatinstellingen

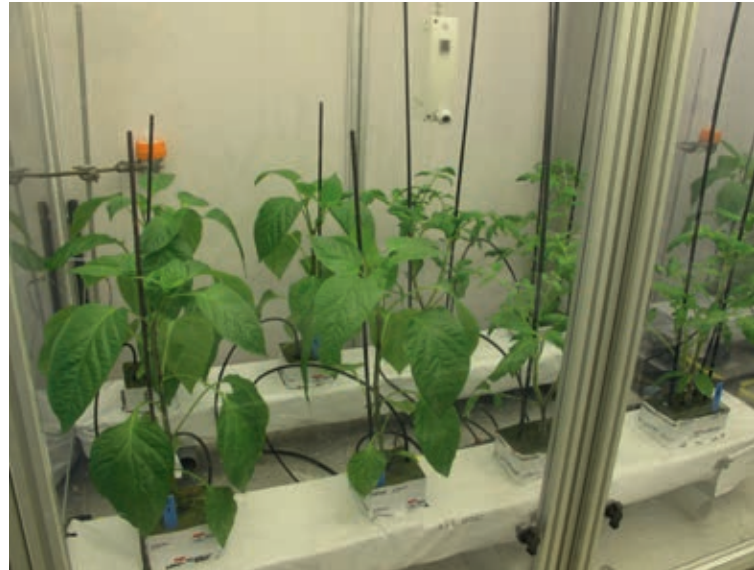
Tijdens beide begassingsproeven werd een daglengte aangehouden van 12 uur (5.00-17.00 uur). De lichtintensiteit op planthoogte werd ingesteld op ca. 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Philips TL 54 W, kleur 840). Aan het begin van de lichtperiode werd de lichtintensiteit gedurende 30 minuten geleidelijk opgebouwd en aan het einde van de lichtperiode ook gedurende 30 minuten weer geleidelijk afgebouwd. Vijftien minuten voor en na de lichtperiode werd additioneel verroodlicht toegediend door middel van gloeilampen (Philips, Superlux Agro 150 W, negen stuks).

De temperatuur en luchtvochtigheid in de klimaatcel werd zodanig ingesteld dat de temperatuur in de begassingskasjes ca. 20 °C bedroeg bij een relatieve luchtvochtigheid van circa 70%. De temperatuur en relatieve luchtvochtigheid werden in elk kasje geregistreerd gedurende de experimenten.

## 2.2 Plantverzorging

Voor beide begassingsproeven werden jonge paprikaplanten van het ras 'Maranello' en tomatenplanten van het ras 'Rebelski' geleverd door plantenkwekerij 'Holland Plant' uit Bleiswijk. Het betreft gangbare rassen die daarmee redelijk representatief zijn voor de glastuinbouw. Per behandeling (kasje) werden vier paprika- en vier tomatenplanten geplant ingezet. Op het moment van inzetten was bij paprika de eerste bloemknop net zichtbaar. De tomatenplanten waren op twee stengels gezet en hadden een klein trosje en ca. zes blaadjes per stengel. Door de snelle groei van tomaat is 1 stengel na 1 week verwijderd (DMS begassing) of is de 2<sup>e</sup> stengel direct verwijderd bij het inzetten van de planten in

de kasjes (benzeen begassing), om voldoende ruimte in de kasjes houden. De op steenwolblokjes opgekweekte planten werden op steenwolmatten in plastic goten (libra) met drain geplaatst en door middel van een automatisch doseersysteem naar behoefte voorzien van standaard voedingsoplossing (Bijlage I). Paprikaplanten werden vervolgens wekelijks gesnoeid op twee stengels, waarbij per stengel steeds één knop en één blad werd aangehouden. Dieven werden verwijderd en de planten werden opgebonden aan stokken. De begassing werd gestart ongeveer 24 uur na inzetten van de planten. Tijdens de begassing werden de planten dagelijks gecontroleerd op zichtbare symptomen (chlorose, bladbeschadiging, blad/bloem of vrucht abortie, andere bladstand etc.). Na afloop van elke begassingsperiode werden de belangrijkste groeiparameters bepaald (biomassa, bladoppervlak, aantal vruchten etc.). Bij paprika werd alleen het deel boven de eerste splitsing geoogst, inclusief de hartvrucht, om effecten van de begassing op het tijdens de blootstellingsperiode gevormde deel van de planten zo goed mogelijk te kunnen meten. Bij tomaat is de hele plant geoogst.



Opstelling van de 6 begassingskasjes in een klimaatkamer.

Paprika- (links) en tomatenplanten (rechts) bij aanvang begassingproef.



Paprika: eind oogst.



Tomaat: eind oogst.





## 3 Resultaten

### 3.1 Beoordeling en prioritering gasvormige componenten in biogas

De firma Pentair Haffmans heeft op basis van eerder door haar uitgevoerde metingen aan vergistingsinstallaties informatie aangeleverd m.b.t. de componenten die in de afgassen kunnen voorkomen. Deze zijn beoordeeld op fytotoxiciteit en ingedeeld in drie categorieën:

1. Potentieel fytotoxisch
2. Niet fytotoxisch
3. Onbekend, geen informatie beschikbaar

De resultaten van de beoordeling zijn weergegeven in Tabel 1. De door Pentair Haffmans aangetoonde componenten in de afgassen van de verschillende vergistingsinstallaties zijn grijs gemarkeerd weergegeven. In Tabel 1 zijn ter aanvulling ook die componenten weergegeven die in de CO<sub>2</sub>-stroom kunnen voorkomen na winning uit industriële bronnen en/of andere vergistingsinstallaties. Deze aanvullende informatie komt uit diverse eerdere Wageningen UR onderzoeken naar fytotoxiciteit van gasvormige componenten in CO<sub>2</sub> stromen (o.a. Dieleman *et al.*, 2007; Dueck *et al.*, 2003; 2008).

De onderliggende chromatogrammen op basis waarvan Pentair Haffmans de lijst van componenten heeft samengesteld zijn ter aanvulling kwalitatief beoordeeld. Hieruit is geen relevante aanvullende informatie gekomen behalve m.b.t. de component undecane. Uit eerder onderzoek is gebleken dat deze component niet-fytotoxisch is. Deze component is aan de lijst toegevoegd.

Tabel 1. Overzicht van componenten die in de afgassen van de vergistingsinstallaties en/of industriële bronnen kunnen voorkomen ingedeeld in potentieel fytotoxisch, niet fytotoxisch of fytotoxiciteit onbekend. In grijs wordt componenten aangegeven die door Pentair Haffmans in de afgassen zijn aangetoond.

| Component               | Potentieel Fytotoxisch | Niet Fytotoxisch | Onbekend |
|-------------------------|------------------------|------------------|----------|
| <b>Koolwaterstoffen</b> |                        |                  |          |
| Methaan                 |                        | +                |          |
| Ethaan                  |                        | +                |          |
| Propan                  |                        | +                |          |
| 2-methylpropan          |                        |                  | +        |
| 2,2-dimethylpropan      |                        |                  | +        |
| Methaanethiol           |                        |                  | +        |
| 1-propanethiol          | +                      |                  |          |
| 1-propanol              | +                      |                  |          |
| Methanol                |                        | +                |          |
| Ethanol                 | +                      |                  |          |
| Etheen                  | +                      |                  |          |
| Butaan                  |                        | +                |          |
| n-Butaan                |                        | +                |          |
| 2-methylbutaan          |                        |                  | +        |
| 2,2-dimethylbutaan      |                        |                  | +        |
| 2,3-dimethylbutaan      |                        |                  | +        |
| Iso-butanol             |                        |                  | +        |

| Component                           | Potentieel Fytotoxisch | Niet Fytotoxisch | Onbekend |
|-------------------------------------|------------------------|------------------|----------|
| Pentaan                             |                        | +                |          |
| Cyclopentaan                        |                        |                  | +        |
| 3-methylpentaan                     |                        |                  | +        |
| Hexaan                              |                        | +                |          |
| 2-methylhexaan                      |                        |                  | +        |
| Heptaan                             |                        | +                |          |
| Methylcyclohexaan                   |                        |                  | +        |
| n-oktaan                            |                        | +                |          |
| d-limoneen                          |                        |                  | +        |
| Benzeen                             | +                      |                  |          |
| Tolueen                             |                        | +                |          |
| Xyleen                              |                        | +                |          |
| Propeen                             | +                      |                  |          |
| Aldehyden                           | +                      |                  |          |
| Acetaldehyde                        |                        | +                |          |
| Formaldehyde                        | +                      |                  |          |
| Aceton                              |                        | +                |          |
| Ethyl acetaat                       |                        | +                |          |
| 3-methyl-1-butanol                  |                        | +                |          |
| 2-methyl-1-butanol                  |                        | +                |          |
| Ethyl propionate                    |                        | +                |          |
| Ethyl caproate                      |                        |                  | +        |
| Iso-amylacetate                     |                        | +                |          |
| A-pinene                            |                        | +                |          |
| B-pinene                            |                        | +                |          |
| 3-carene                            |                        | +                |          |
| Cymene                              |                        | +                |          |
| Limonene                            |                        | +                |          |
| 2-butanone                          |                        | +                |          |
| Furan                               |                        |                  | +        |
| Undecane                            |                        | +                |          |
| <b>Zwavelverbindingen</b>           |                        |                  |          |
| Zwavedioxide                        | +                      |                  |          |
| Waterstofsulfide (H <sub>2</sub> S) | +                      |                  |          |
| Carbonylsulfide                     |                        |                  | +        |
| Dimethylsulfide (DMS)               |                        |                  | +        |
| Koolstofdisulfide                   |                        |                  | +        |
| Mercaptanen                         |                        |                  | +        |
| Tetrahydrothiofeen                  |                        |                  | +        |
| <b>Siliciumverbindingen</b>         |                        |                  |          |
| Silanol                             |                        |                  | +        |
| Cyclotrisiloxaan                    |                        |                  | +        |
| Cyclotetrasiloxaan                  |                        |                  | +        |
| Cyclopentasiloxaan                  |                        |                  | +        |
| Cyclohexasiloxaan                   |                        |                  | +        |



| Component                            | Potentieel Fytotoxisch | Niet Fytotoxisch | Onbekend |
|--------------------------------------|------------------------|------------------|----------|
| Cycloheptasiloxaan                   |                        |                  | +        |
| Cyclo-octa/nona/deca-siloxaan        |                        |                  | +        |
| <b>Halogeenkoolwaterstoffen</b>      |                        |                  |          |
| Chloordifluormethaan                 |                        |                  | +        |
| Chloorpentafluormethaan              |                        |                  | +        |
| Monochloormethaan                    |                        |                  | +        |
| Dichloormethaan                      |                        |                  | +        |
| Trichloormethaan                     |                        |                  | +        |
| Dichloorfluormethaan                 |                        |                  | +        |
| Trichloorfluormethaan                |                        |                  | +        |
| Dichloortetrafluorethaan             |                        |                  | +        |
| 1,1,2 trichloor 1,2,2 trifluorethaan |                        |                  | +        |
| Chlooretheen                         |                        |                  | +        |
| 1,1 dichlooretheen                   |                        |                  | +        |
| 1,2 dichlooretheen trans             |                        |                  | +        |
| 1,2 dichlooretheen cis               |                        |                  | +        |
| Trichlooretheen                      | +                      |                  |          |
| Tetrachlooretheen                    | +                      |                  |          |
| Dichloorbenzenen                     |                        |                  | +        |
| <b>Stikstof verbindingen</b>         |                        |                  |          |
| Ammoniak                             | +                      |                  |          |
| Stikstof oxide                       | +                      |                  |          |
| Stikstof dioxide                     | +                      |                  |          |
| <b>Overige verbindingen</b>          |                        |                  |          |
| Waterstoffluoride (HF) <sup>1</sup>  | +                      |                  |          |
| Waterstofchloride (HCl)              | +                      |                  |          |
| Waterstofcyanide (HCN)               |                        |                  | +        |
| Vinylchloride                        |                        |                  | +        |
| Methyl ketonen                       |                        |                  | +        |
| Fosfine                              |                        |                  | +        |

<sup>1</sup> Het is niet bekend of HF in biogas voorkomt. Vanwege de sterke toxiciteit van HF voor planten is het van belang dit te controleren.

Voor verder onderzoek zijn de componenten die als potentieel fytotoxisch zijn aangemerkt en die waarvan geen informatie beschikbaar is relevant. Van zwaveldioxide (SO<sub>2</sub>) en waterstofsulfide (H<sub>2</sub>S) zijn effectgrenswaarden voor planten al eerder afgeleid, verder testen is voor deze beide componenten niet relevant. Voor de overige componenten is op basis van *expert judgement* en beschikbaarheid (voor begassingsproeven) de volgende prioritering aangebracht:

1. Dimethylsulfide (DMS, als representant van de groep sulfide verbindingen waarvan geen informatie beschikbaar is)
2. Benzeen (ter bevestiging van de relatief lage effectgrenswaarde maar waarvan de wetenschappelijke basis smal is)
3. Ethanol (alcohol, potentieel fytotoxisch)
4. 1-propanethiol (mercaptanen/thiolen, potentieel fytotoxisch)
5. 1-propanol (alcohol, potentieel fytotoxisch)

Dimethylsulfide en benzeen zijn nader onderzocht door middel van begassingsonderzoek.

## 3.2 Concentraties en klimaatomstandigheden

De gerealiseerde DMS en benzeen concentraties, gemiddelde etmaaltemperatuur en relatieve luchtvochtigheid in de kasjes tijdens de experimenten zijn weergegeven in Tabel 2. In de controle behandeling waren beide componenten niet aantoonbaar. Met betrekking tot de DMS begassingsproef is na 12 dagen de concentratie in de laagste concentratie ('25 ppb behandeling') verhoogd naar 750 ppb vanwege het uitblijven van zichtbare effecten en/of groeiverschillen bij de hoogste concentratie van 200 ppb. Door het uitvallen van een deel van de belichting in de klimaatcel is de begassingproef meteen op dat moment (na 17 dagen) beëindigd (i.p.v. de geplande 21 dagen). Voor benzeen is eveneens door het uitblijven van effecten na 12 dagen begassen de '10 ppb behandeling' verhoogd naar 360 ppb en de '54 ppb behandeling' naar 650 ppb. Planten zijn in totaal gedurende 21 dagen blootgesteld aan benzeen.

Tabel 2. Gerealiseerde DMS en benzeen concentraties, en klimaatomstandigheden.

| Parameter                            | Behandeling |          |      |      |           |      |
|--------------------------------------|-------------|----------|------|------|-----------|------|
|                                      | 1           | 2        | 3    | 4    | 5         | 6    |
| <i>DMS experiment (17 dagen)</i>     |             |          |      |      |           |      |
| Etmaaltemp. (°C)                     | 20.3        | 20.3     | 20.1 | 20.5 | 21.4      | 20.7 |
| RV (%)                               | 69.6        | 70.4     | 69.6 | 68.2 | 65.5      | 67.4 |
| DMS setpoint (ppb)                   | 0           | 25/750*  | 43   | 75   | 130       | 200  |
| DMS gerealiseerd (ppb)               | n.a.        | n.a./800 | 51   | 78   | 127       | 196  |
|                                      |             |          |      |      |           |      |
| <i>Benzeen experiment (21 dagen)</i> |             |          |      |      |           |      |
| Etmaaltemp. (°C)                     | 20.2        | 20.1     | 20.0 | 20.4 | 20.5      | 20.5 |
| RV (%)                               | 69.8        | 69.3     | 68.5 | 70.0 | 69.1      | 67.9 |
| Benzeen setpoint (ppb)               | 0           | 10/360** | 18   | 31   | 54/650*** | 93   |
| Benzeen gerealiseerd (ppb)           | n.a.        | 10/372   | 22   | 33   | 60/647    | 87   |

\* na 14 dagen verhoogd naar 750 ppb

\*\* na 14 dagen verhoogd naar 360 ppb

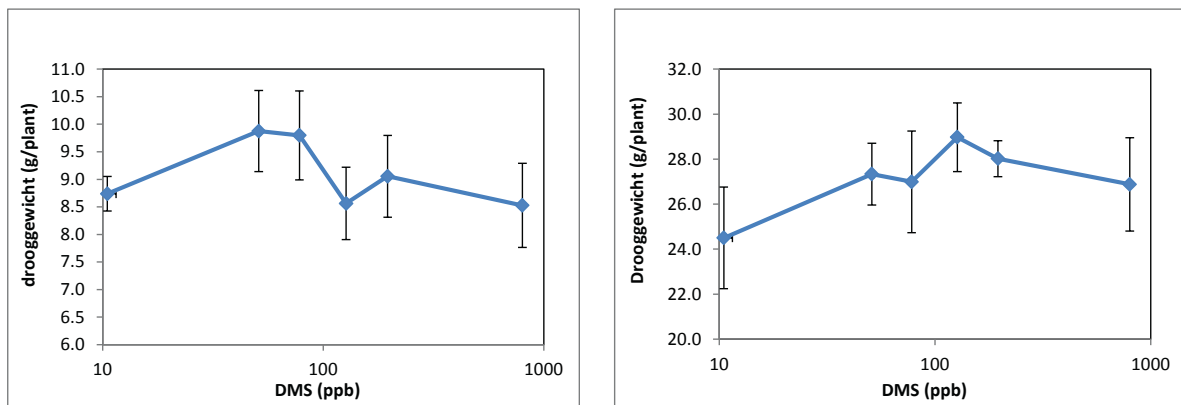
\*\*\* na 14 dagen verhoogd naar 650 ppb

## 3.3 DMS experiment

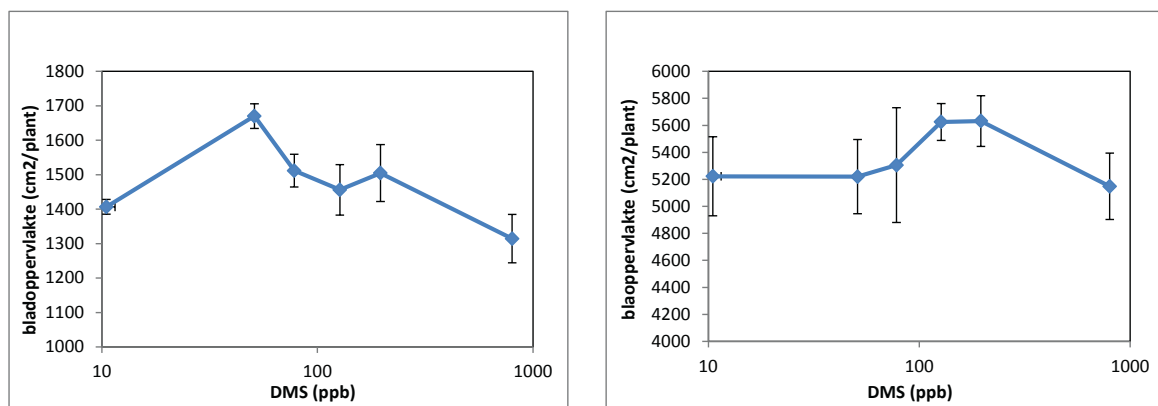
Paprika- en tomatenplanten zijn gedurende 17 dagen continu blootgesteld aan verschillende DMS concentraties variërend van 0 tot 750 ppb. Tijdens de begassingsperiode zijn de planten dagelijks beoordeeld op eventuele zichtbare symptomen als gevolg van de blootstelling aan DMS. Bij aanvang van de begassingsproef waren bij alle tomatenplanten op de twee oudste bladeren donkere vlekjes te zien. Gedurende de begassingsproef zijn er meer vlekjes ontstaan maar er waren geen eenduidige verschillen tussen de planten in de controle als in de DMS behandelingen. Bij paprika was bij aanvang net de eerste knop open in alle kasjes. Gedurende de begassingsproef zijn er zowel bij paprika als tomaat, ook na verhoging van de concentratie in een van de behandelingen tot 750 ppb, geen zichtbare effecten waargenomen op blad, knop of vrucht (alleen paprika).

Na 17 dagen werd de begassing beëindigd en werden enkele groeiparameters bepaald. De verschillen tussen de behandelingen waren echter onvoldoende groot om dose-respons relaties te kunnen berekenen. Er zijn met betrekking tot de bovengrondse biomassaproductie geen eenduidige verschillen tussen de behandelingen geconstateerd (Figuur 3)<sup>1</sup>.

De DMS behandelingen bij paprika resulteerden in zowel lagere als hogere biomassaproductie t.o.v. de controle. Het bladoppervlak vertoonde een grote variatie tussen behandelingen, bij lagere doseringen was het bladoppervlak groter t.o.v. de controle terwijl bij hogere doseringen het oppervlak kleiner was (Figuur 4). Het aantal bloemen knoppen en vruchten liet een enigszins dalende tendens zien bij toename van de DMS concentratie (Figuur 5). Bij tomaat was de biomassaproductie in alle behandelingen enigszins hoger dan de controle. Met betrekking tot het bladoppervlak en het aantal trossen (bloeiend en niet-bloeiend) zijn geen eenduidige verschillen gevonden t.o.v. de controle behandeling.

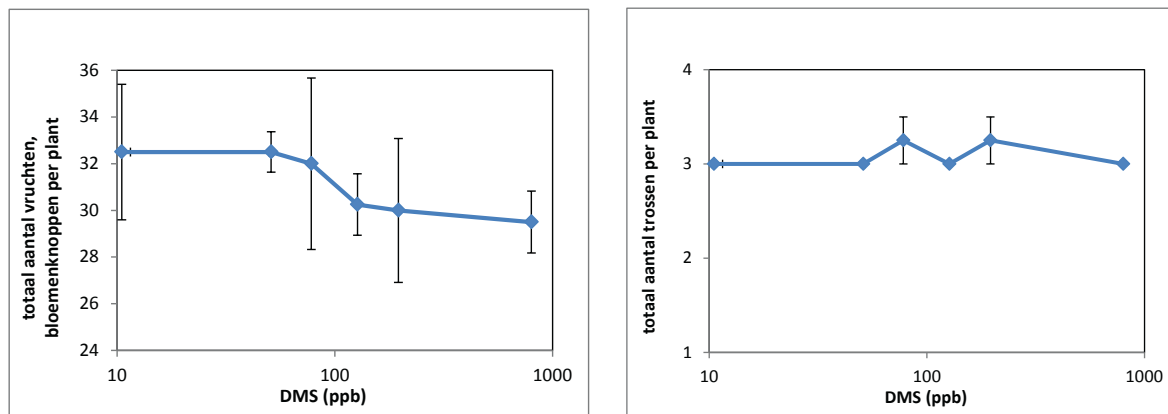


Figuur 3 Gemiddelde ( $\pm$  standaard fout) biomassa productie per plant (g) bij paprika (links) en tomaat (rechts) na 17dagen blootstelling aan verschillende DMS concentraties (NB. x-as op log-schaal).



Figuur 4. Gemiddeld ( $\pm$  standaard fout) bladoppervlak (cm<sup>2</sup>) per plant voor paprika (links) en tomaat (rechts) na 17 dagen blootstelling aan verschillende DMS concentraties (NB. x-as op log-schaal).

1 Voor figuren 3 tot en met 5 geldt: in de controlebehandeling was geen DMS aantoonbaar. Echter, vanwege de logarithmische schaalverdeling is voor de weergave van de resultaten in de controlebehandeling in de grafieken een concentratie van '10' ppb aangehouden. de behandeling met de hoogste concentratie van 800 ppb heeft betrekking op een blootstelling gedurende vijf dagen.

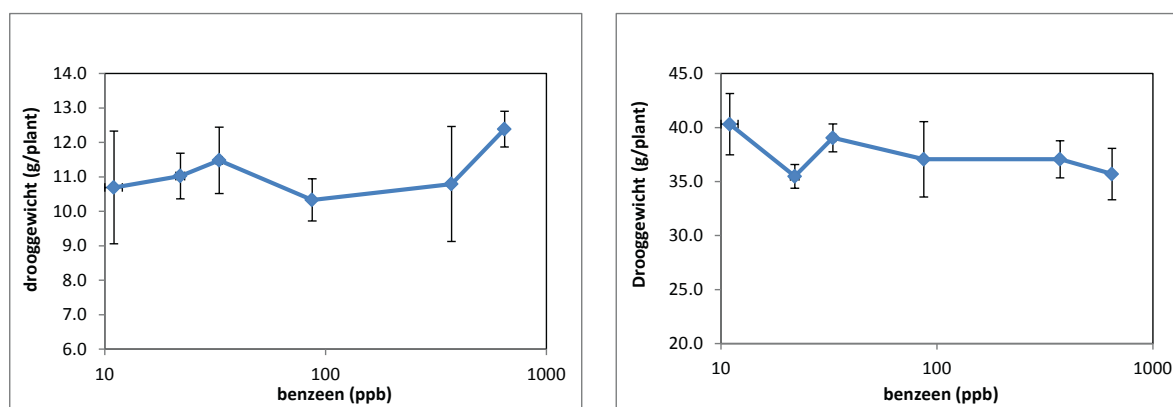


Figuur 5. Gemiddeld ( $\pm$  standaard fout) aantal bloemen, knoppen en vruchten bij paprika (links) en aantal trossen (bloeiend en niet-bloeiend) bij tomaat (rechts) na 17 dagen blootstelling aan verschillende DMS concentraties (NB. x-as op log-schaal).

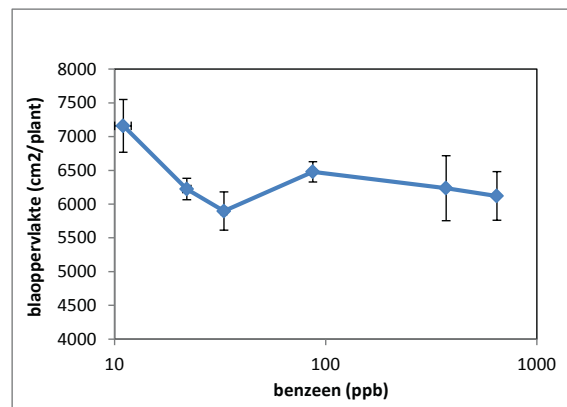
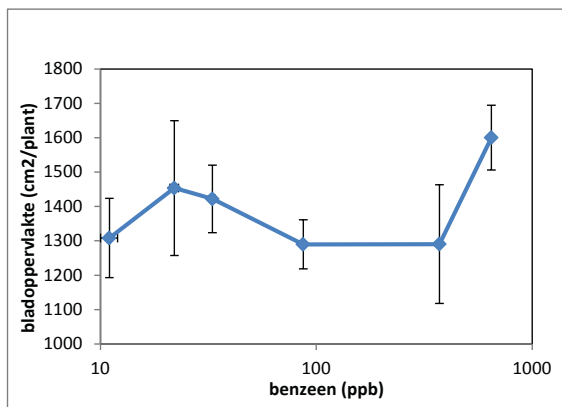
### 3.4 Benzeen experiment

Paprika- en tomatenplanten zijn gedurende 21 dagen continu blootgesteld aan verschillende benzeen concentraties variërend van 0 tot 650 ppb. Tijdens de begassingsperiode zijn de planten dagelijks beoordeeld op eventuele zichtbare symptomen als gevolg van de blootstelling aan benzeen. Gedurende de begassing zijn geen zichtbare effecten aan paprika- en tomatenplanten waargenomen. De paprikaplanten hebben vruchten, gezette vruchten, open bloemen en knoppen in alle kasjes. Een enkele plant (ook in de controle) is wat gelig in de kop. De tomatenplanten ontwikkelden zich tot grote, vitale groene planten met dikke stelen. In alle behandelingen waren trossen te zien met een gezette vrucht, bloeiende trossen en jonge gesloten trossen. De oudste bladeren hadden in alle behandelingen, inclusief de controlebehandeling wat necrotische vlekjes.

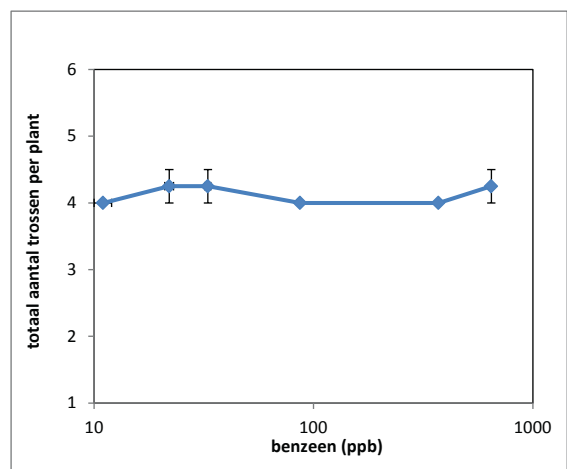
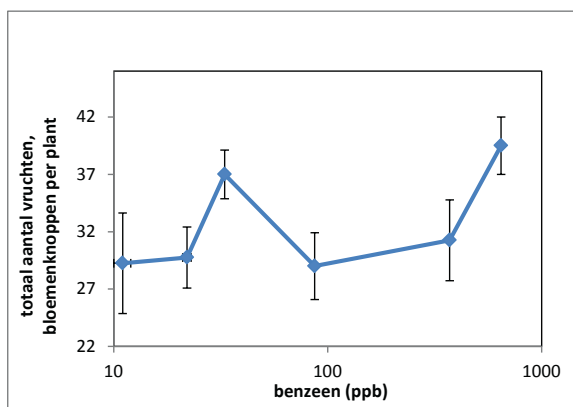
Na 21 dagen werd de begassing beëindigd en werden enkele groeiparameters bepaald. De verschillen tussen de behandelingen waren echter onvoldoende groot om dose-respons relaties te kunnen berekenen. Er zijn met betrekking tot de bovengrondse biomassa productie voor zowel paprika als tomaat geen eenduidige verschillen gevonden tussen de behandelingen en ten opzichte van de controle (Figuur 6). Het bladoppervlak vertoonde bij paprika enige variatie tussen behandelingen, bij de hoogste dosering werd ook het grootste bladoppervlak gevonden. Bij tomaat was het bladoppervlak in alle benzeenbehandelingen iets lager ten opzichte van de controle behandeling (Figuur 7). Het aantal bloemen, knoppen en vruchten bij paprika liet een vergelijkbaar beeld zien als bij het bladoppervlak, het hoogste aantal bloemen en knoppen bij de hoogste dosering. Meest waarschijnlijke verklaring is dat beide parameters gerelateerd zijn aan de groei en de grootte van de planten. Bij tomaat was het aantal trossen (bloeiend en niet-bloeiend) vrijwel gelijk voor alle behandelingen (Figuur 8).



Figuur 6. Gemiddelde ( $\pm$  standaard fout) biomassa productie per plant (g) bij paprika (links) en tomaat (rechts) na 21 dagen blootstelling aan verschillende benzeen concentraties (NB. x-as op log-schaal).



Figuur 7. Gemiddeld ( $\pm$  standaard fout) bladoppervlak (cm<sup>2</sup>) per plant voor paprika (links) en tomaat (rechts) na 21 dagen blootstelling aan verschillende benzeen concentraties (NB. x-as op log-schaal).



Figuur 8. Gemiddeld ( $\pm$  standaard fout) aantal bloemen, knoppen en vruchten bij paprika (links) en aantal trossen (bloeiend en niet-bloeiend) bij tomaat (rechts) na 21 dagen blootstelling aan verschillende benzeen concentraties (NB. x-as op log-schaal).



## 4 Discussie & conclusies

Componenten die in afgassen van vergistingsinstallaties kunnen voorkomen zijn beoordeeld op fytotoxiciteit. Deze screening op basis van bestaande informatie uit de literatuur toont aan dat sommige componenten als potentieel fytotoxisch moeten worden aangemerkt. Deze groep bevat ook componenten zoals zwaveldioxide (SO<sub>2</sub>), stikstofoxiden (NO<sub>x</sub>), ammoniak (NH<sub>3</sub>) en waterstofsulfide (H<sub>2</sub>S) waarvoor al effectgrenswaarden voor planten zijn afgeleid, verder testen is voor deze componenten niet relevant. Voor de overige potentieel fytotoxische componenten is op basis van *expert judgement* en beschikbaarheid (voor begassingsproeven) de volgende prioritering aangebracht:

1. Dimethylsulfide (DMS, als representant van de groep sulfide verbindingen waarvan geen informatie beschikbaar is)
2. Benzeen (ter bevestiging van de relatief lage effectgrenswaarde maar waarvan de wetenschappelijke basis smal is)
3. Ethanol (alcohol, potentieel fytotoxisch)
4. 1-propanethiol (mercaptanen/thiolen, potentieel fytotoxisch)
5. 1-propanol (alcohol, potentieel fytotoxisch)

DMS en benzeen zijn beide in een afzonderlijk begassingsexperiment getest op fytotoxiciteit. Hiervoor zijn paprika en tomaten planten gedurende ongeveer drie weken blootgesteld aan een concentratiereeks van de betreffende componenten. Paprika en tomaat worden als representatief gezien voor de glastuinbouw. De twee begassingsproeven werden na elkaar uitgevoerd. Op grond van het onderzoek worden de volgende conclusies getrokken:

1. Uit de begassingsproef blijkt dat bij paprika en tomaat geen negatieve effecten zoals zichtbare bladbeschadiging en groeireductie zijn te verwachten na blootstelling aan DMS concentraties tot ca. 800 ppb gedurende ongeveer drie weken. De resultaten laten zien dat uitgaande van een geschatte gemiddelde concentratie in de kas op plantriveau van 35 ppb, het niet aannemelijk is dat de concentraties in het biogas in de praktijk tot effecten aan planten zullen leiden. Op het einde van de begassingsproef zijn een aantal planten kortdurend blootgesteld aan een hoge concentratie zonder aantoonbaar effect. Blijkbaar leiden ook piekbelastingen niet tot effecten bij paprika en tomaat.
2. Uit de begassingsproeven blijkt dat bij paprika en tomaat geen negatieve effecten zoals zichtbare bladbeschadiging en groeireductie zijn te verwachten bij blootstelling aan benzeen concentraties tot ca. 650 ppb gedurende ongeveer drie weken. De hoogste toegepaste concentratie is circa 10x hoger dan de hoogst gemeten concentratie in het biogas. het feit dat bij deze hoge concentratie geen aantoonbare effecten zijn vastgesteld maakt het niet aannemelijk dat de concentraties in het biogas in de praktijk tot effecten aan planten zullen leiden.
3. De verschillen tussen de behandelingen waren onvoldoende groot om voor beide componenten dose-respons relaties en *No Observable Effect Concentrations* (NOEC) waarden te kunnen berekenen.
4. Hoewel niet onderzocht is het niet aannemelijk dat lagere concentraties gedurende langere tijd, zoals in praktijkkassen zou kunnen voorkomen, tot negatieve effecten zouden leiden;
5. Op grond van de gekozen blootstellingsduur van ca. drie weken was het niet mogelijk uitspraken te doen over de kwaliteit van (eetbare) vruchten. Van gasvormig benzeen is bekend dat het via de cuticula en stomata van het blad kan worden opgenomen (Ugrekheldze, 1997) en daar vervolgens relatief snel wordt afgebroken tot CO<sub>2</sub>, er zijn dan ook geen aanwijzingen dat benzeen zou accumuleren in plantenweefsels (Debus *et al.* 1989). Voor gasvormig DMS is het aannemelijk dat het voornamelijk via de stomata door bladeren wordt opgenomen maar het is niet bekend of deze component accumuleert in plantenweefsels;
6. Met de lijst met mogelijke risicovolle componenten en een test van twee componenten is een aanzet gemaakt om te komen tot specifieke kwaliteitseisen voor vloeibaar CO<sub>2</sub>, voor toepassingen in de glastuinbouw.

## Aanbevelingen

1. Uit de inventarisatie zijn een aantal componenten aangemerkt als potentieel fytotoxisch, waarvan er twee zijn getest (dit rapport). Het is aan te bevelen ook de andere geprioriteerde componenten te testen op fytotoxiciteit:

|                 |   |
|-----------------|---|
| Ethanol         | (alcohol, potentieel fytotoxisch)             |
| 1-propaanethiol | (mercaptanen/thiolen, potentieel fytotoxisch) |
| 1-propanol      | (alcohol, potentieel fytotoxisch)             |

2. De testen zijn uitgevoerd met groentegewassen paprika en tomaat. Het is aan te bevelen om ook enkele siergewassen te testen die onder hoog licht en hoog CO<sub>2</sub> niveau worden geteeld zoals Roos, Lisianthus en Phalaenopsis.
3. Het is praktisch gezien niet haalbaar om de tientallen verschillende aangetoonde componenten in biogas te testen op fytotoxiciteit. Het potentieel risico zou ondervangen kunnen worden door een test uit te voeren met een 'CO<sub>2</sub> cocktail', bestaande uit een samengesteld mengsel zoals dat aan de glastuinbouw geleverd zou kunnen worden.



## 5 Referenties

- Dieleman, Anja, Jeroen Zwinkels, Arie de Gelder, Ingrid Kuiper, Feije de Zwart, Chris van Dijk & Tom Dueck. 2007.  
CO<sub>2</sub> bij paprika: meerwaarde en beperkingen. Wageningen UR Glastuinbouw, Nota 494. 80 pp.
- Dueck, Th. & C.J. van Dijk. 2008.  
Risico-evaluatie OCAP-CO<sub>2</sub> vanuit Abengoa. Wageningen UR, Nota 404, 12 pp.
- Dueck, Th., C.J. van Dijk, F. Kemkes & T. van der Zalm, 2008.  
Emissies uit WKK installaties in de glastuinbouw. Wageningen UR, Nota 505, 46 pp.
- Dueck, Th.A., C.J. van Dijk, F. David, N. Scholz & F. Vanwalleghe, 2003.  
Chronic effects of di-n-butyl phthalate (DBP) on six plant species. Chemosphere 53: 911-920.
- ISBT, 2010.  
Bulk Carbon Dioxide Quality Guidelines And Analytical Methods Reference. International Society of Beverage Technologists, Dallas, Texas.
- Posthumus, A.C., Tonneijck A.E.G. & Van der Eerden, L.J. 1989.  
Exposure-effect relationships for plants in relation to several air pollutants. In: L. Brasser & W. Mulder (Eds.), Proceedings of the 8th World Clean Air Congress, The Hague. Elsevier, Amsterdam, 13-18.
- Tonneijck, A.E.G. 1989.  
Evaluation of ozone effects on vegetation in The Netherlands. In: T Schneider, S.D. Lee, G.J.R. Wolters & L.D. Grant (Eds.), Atmospheric ozone research and its policy implications. Studies in Environmental Science 35. Elsevier, Amsterdam, 251-260.
- Tonneijck, A.E.G. & Van Dijk, C.J. 1993.  
Verkenndend onderzoek naar de effecten van niet-verzurende luchtverontreiniging op planten. Centrum voor agrobiologisch onderzoek (cabo-dlo), Wageningen.
- Tonneijck, A.E.G. & Van Dijk, C.J. 2000.  
Effecten van etheen op planten rond lokale bronnen. Een risico-evaluatie. Plant Research International Nota 42, Wageningen, 22 pp.
- Ugrekhelidze D., F. Korte F & G. Kvesitadze, 1997  
Uptake and transformation of benzene and toluene by plant leaves. Ecotoxicology and Environmental Safety 37, 24-29.
- Van Dijk, C.J., E. Meinen & Th. A. Dueck, 2011.  
Grenzen voor luchtkwaliteit. Effecten van discontinue blootstelling aan etheen en stikstofoxiden op paprika. Wageningen UR Glastuinbouw rapport GTB-1107, Wageningen.



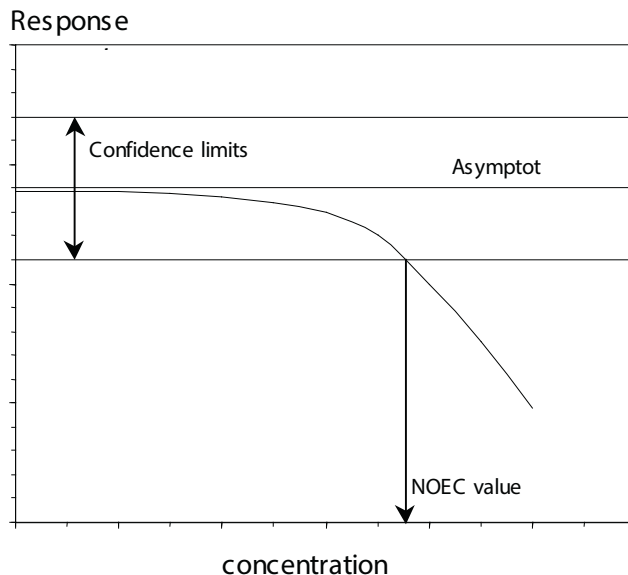
## Bijlage I Voedingsoplossing

| Hoofdelementen                | mmol/liter | Spoorelementen   | μmol/liter |
|-------------------------------|------------|------------------|------------|
| NH <sup>4+</sup>              | 1.2        | Fe <sup>2+</sup> | 25         |
| K <sup>+</sup>                | 7.2        | Mn <sup>2+</sup> | 10         |
| Ca <sup>2+</sup>              | 4.1        | Zn <sup>2+</sup> | 5          |
| Mg <sup>2+</sup>              | 1.8        | B <sup>3+</sup>  | 30         |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | 12.4       | Cu <sup>2+</sup> | 0.75       |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 3.3        | Mo <sup>4+</sup> | 0.50       |
| P <sup>3-</sup>               | 1.1        |                  |            |
| EC 2.0                        |            |                  |            |
| pH 5.8                        |            |                  |            |



## Bijlage II Verwerking van gegevens

Voor de proefopzet is gekozen voor een reeks verschillende behandelingen zonder herhaling. Een dergelijke opzet maakt het mogelijk dosis-response-relaties te bepalen en aansluitend *No Observable Effect Concentrations* (NOEC) te berekenen (Dueck *et al.*, 2003). Dit impliceert het gebruik van regressie analyse voor het analyseren van de gegevens in plaats van variantie analyse om te toetsen op verschillen tussen behandelingen.



**Formule 1:**

$$y = \frac{C}{1 + e^{-B(\ln(x) - \ln(M))}}$$

**Formule 2:**

$$NOEC = M - \frac{\ln(C / y_c - 1)}{B}$$

Figuur A. Grafische weergave voor het afleiden van NOECs. Na berekening van de dosis-response relatie (formule 1) en bepaling van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de asymptoot (representant van geen effect), werd de concentratie bepaald overeenkomend met de ondergrens van het betrouwbaarheidsinterval (formule 2). Uit: Dueck *et al.*, (2003).

Voorafgaande aan de regressie analyse werd voor elke effectparameter het gemiddelde per behandeling (begassingskasje) bepaald. Per effectparameter werd op basis van de gemiddelde waarde per behandeling de dosis-response-relatie bepaald door middel van regressie analyse met een logistisch model (Genstat, 1993). De beste *fit* van de non-lineaire regressie is gebruikt voor het berekenen van regressie-vergelijkingen met de formule:

$$y = C / \{1 + \exp[-B(\ln(x) - \ln(M))]\} \quad (\text{Formule 1, Figuur A})$$

waarin C is de berekende response als  $x=0$ , waarbij x is de gemiddelde concentratie (ppb) van de betreffende luchtverontreinigingscomponent gedurende de gehele expositieperiode. Na schatting van parameter M (de concentratie die overeenkomt met het 50% effect ten opzichte van de controle) en B (schaal parameter), kan de Effectieve Concentratie worden berekend (EC10) die overeenkomt met een 10% lager effect ten opzichte van de controle (onder C). Vervolgens kan de NOEC worden berekend met behulp van de formule:

$$NOEC = M - \{\ln(C/y_c - 1)\}/B \quad (\text{Formule 2, Figuur A})$$

Waarin  $y_c$  de ondergrens is van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de asymptoot (C). De NOECs en EC10 werden berekend met de module *Fitnonlinear* van het statistisch software pakket Genstat.



# Gasanalyses Pentair Haffmans

[illegible][illegible]













Projectnummer: 3242108001

